Ministerium für Land-, Forst- und Nahrungsgüterwirtschaft
der

Deutschen Demokratischen Republik
Abteilung Veterinärwesen

Klinisch-chemische

UNTERSUCHUNGSMETHODEN

für

veterinär-medizinische Einrichtungen

der

Deutschen Demokratischen Republik

Band Z

SIM

Institut für angewandte Tierhygiene Eberswalde-Finow

Ministry of Agriculture Fisheries and Food Veterinary Laboratory

Library

Class No. 9/P.G. AT. X
Auch, Mk. GER
Access No. C8/2
Demand No.

KALZIUM	M	01.2
NATRIUM	M	03.1
KALIUM	M	04.1

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4 und MODELL III)

In einer Azetylen/Luft-Flamme werden Alkalimetall- u. Erdalkalimetallatome zur Emission eines diskontinuierlichen Spektrums angeregt. Die Intensität des emittierten Lichtes ist der Konzentration der entsprechenden Metallionen in den Probelösungen proportional.

Plasma, Serum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Herstellung
1	Natriumchlorid p.a.	Dai 105 00 his and
2	Kaliumchlorid p.a.	Bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz trocknen
3	Kalziumkarbonat	dewichtekonstanz trockhen.
	p.a.	
4	Na-Lg.	210,40 g Natriumchlorid in bidest. Wasser lösen und zu 1 000 ml auf- füllen.
5	K-Lg.	16,03 g Kaliumchlorid in bidest. Wasser lösen und zu 1 000 ml auf- füllen.
6	Ca-Lg.	12,51 g Kalziumkarbonat in wenig Salzsäure lösen und mit bidest. Was- ser zu 1 000 ml auffüllen.
7	Wasser/Methanol- Gemisch	200 ml Methanol p.a. werden zu 1 000 ml Lösung mit bidest. Wasser ergänzt.
		Fortsetzung Blatt 2

Flammenphotometrische
Bestimmung
(FLAPHO 4; MODELL III)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Reagenzien (Fortsetzung von Blatt 1):

Nr.	Reagenz		ellung			
8	Na-Standard-Lös	ungen:				
	Lg.:	а	р	С	đ	е
	mÄqu. Na/l mg Na/100 ml	115 264	130 299	144 331	160 368	175 402
	Herstellung:					
	Einwaage g NaCL + ml K-Lg. + ml Ca-Lg.	6.721 7	.598	8.416 20 20	9.351 1	0.228
	alle 5 Lösungen mit bidest. Wasser 1 000 ml auffüllen.					
9	K-Standard-Lösu	ngen:				
	mÄqu. K/l mg K/100 ml	3,5 13,7	4,0	4,3 16,8	5,0 19,6	5,5 21,5
	Herstellung:					
	Einwaage g KCl + ml Na-Lg. + ml Ca-Lg.	0,261	0,298	0,321	0,373	0,410
		alle 5 1 000 m	Lösunge l auffi	en mit b	idest. Wa	isser zu
				Fortset	zung Blat	t 3

at Fist an post troff manual

on the same of the		

4.

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4; MODELL III) Plasma Serum

01.2 03.1 04.1 M M

Reagenzien (Fortsetzung von Blatt 2):

Nr.	Reagenz	Herst	ellung			
10	Ca-Standard-Lösu	ngen:				
	Lg.:	а	b	С	d	6
	mÄqu. Ca/l mg Ca/100 ml	4,0 8,0	4,5	5,0	5,5	6,0
	Herstellung:					
	Einwaage g CaCO3 + ml konz. HCl + ml Na-Lg. + ml K-Lg.	alle 5	Lösun			0,300 Wasser zu

eministra principal services principal services (1988) and the services of the

12 16210 non ameterates recording

SIVER H- S

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Ausführung (FLAPHO 4):

A. Vorbereitung der Proben:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1.	РН	O,2 ml Plasma (Serum) O,2 ml Na-, K-, Ca- Stand Lgen. a - e	
2		+ 3,8 ml bidest. Wasser mischen (= Verdünnung 1).	
		Verdünnung 1 zur Bestimmung von KALZIUM zur Bestimmung von KALIUM	
3	PH	0,2 ml Verdünnung 1 0,2 ml Verdünnung der Probe der Na-St Lgen. a - e	1
4		+ 1,8 ml bidest. Wasser mischen (= Verdünnung 2).	
		Verdünnung 2 zur Bestimmung von NATRIUM	

MULTINE WILLIAM

and and a property

	Tannung C. S. O. S.

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Ausführung (FLAPHO 4) - Fortsetzung:

B. Bestimmung von KALZIUM, NATRIUM und KALIUM:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1		Einstellung des FLAPHO 4 (s. dazu auch Betriebsanleitung): a. Preßluftmenge auf ca. 280 1/Std. einstellen. b. Azetylenmenge nach Ermittlung des Umkehrpunktes einstellen (ca. 60 1/Std.). c. Kanal Filter Verstärkerstufe Ca 1 Ca 62 ca. 7 Na 1 Na 59 ca. 3 K 2 K 77 ca. 4	
2		 Messung: a. Nulleinstellung mit bidest. Wasser. b. Messung der Standardansätze a - e des jeweiligen Elementes nach steigender Konzentration. Meßwert-Ermittlung auf der Ca- bzw. Na- bzw. K-Skala. c. Messung der Probelösungen. Nach jeweils 5 Proben sind die Nulleinstellung und der Meßwert des Standardansatzes c zu überprüfen (evtl. nachstellen). Meßwert-Ermittlung auf der Ca- bzw. Na- bzw. K-Skala. 	

Flameno to demand

MIL .. R. IN E

Section 19 1935

Proceductonness and ca. 60 1/

The profession of the state of

a To your Carlett from the form

h mn

i nauro dell

a. Dalloinstellang mit bildet. Tenseer.

b. Moseung der Standerdansitat i. e leet jeweilingen Missensten nach stolerode Mosmentreeton.
Mosmentreeton.
Mosme ruttellung auf lew Ca- bon.
Nach bes. K-Spalia.

c. Measung der Probei fentgen, Mach juweils 5 Proben eind die Solmingtellung und der Mehmeur des Standerdnueatses zur Ebergrüffen (evil mehmmiellen).

delimittiung auf der der bruv.

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Berechnung (Ausführung FLAPHO 4):

Die Probenkonzentrationen können auf der Ca- bzw. Nabzw. K-Skala direkt abgelesen werden, wenn die Konzentrationen der Standardansätze (in mÄqu/l) richtig angezeigt werden.

Treten Abweichungen auf, dann ist aus den Standardkonzentrationen und den jeweiligen Meßwerten eine Eichkurve zu konstruieren. Die Probenkonzentrationen sind dann daran zu ermitteln.

1 mÄqu.Ca/l = 2,00 mg Ca/100 ml 1 mÄqu.Na/l = 2,30 mg Na/100 ml 1 mÄqu.K/l = 3,91 mg K/100 ml

Anme	rkungen:

To the second se

ston destrolles on Misson des des Ces bee. Be wile direct begoleson which , were die Kenast with the standard and the microlles on

end der janetligen Hebrerken eine Eichmuteringen.
... und der janetligen Hebrerken eine Eichmute.
... und der janetligen Hebrerken eine Bichmute.
... und der janetligen Hebrerken eine der i

10 20 100 at 50.00 at 60.00 m. S. 3.91 at 8/100 m.

Flammenphotometrische Bestimmung (MODELL III)

Plasma Serum

01.2 03.1 04.1 M M M

Ausführung (MODELL III):

A. Vorbereitung der Proben:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	O,3 ml Plasma O,3 ml Na-, K-, Ca- (Serum) StandLgen. a-e	
2		+ 2,7 ml Wasser/Methanol-Gemisch mischen (= Verdünnung 1).	
		Verdünnung 1 zur Bestimmung von KALZIUM zur Bestimmung von KALIUM	
3	PH	0,2 ml Verdün- 0,2 ml Verdünnung 1 nung 1 der Na-StLgen. der Probe a - e	
4		+ 1,8 ml bidest. Wasser mischen (= Verdünnung 2).	
		Verdünnung 2 zur Bestimmung von NATRIUM	

Flammenphotometrische Bestimmung (MODELL III)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Ausführung (MODELL III) - Fortsetzung:

B. Bestimmung von KALZIUM, NATRIUM u. KALIUM:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1		Einstellung des MODELL III (s. dazu auch Betriebsanleitung): a. Preßluftdruck auf 0,4 atü einstellen. b. Acetylendruck nach Ermittlung des Umkehrpunktes einstellen. c. Ca Na K Filter Ca 63 Na 59 K 77 d. Blendenöffnung: 1/2 - 3/4	
2		 Messung: a. Leerwerteinstellung mit bidest. Wasser auf 100 Skalenteile. b. Messung der Standardansätze a - e des jeweiligen Elementes nach steigender Konzentration. c. Messung der Probelösungen. Nach jeweils 10 Proben sind die Nulleinstellung und der Meßwert des Standardansatzes c zu überprüfen (evtl. mit Blende nachstellen). 	

i mii

BEREIMBONA.

Tiperellung den MODEL III (a. desa ruor

profluctions in a.o. fur dominatelles.

Acetylendrick was less triums den

Unite wasten elndtelles.

Piltor Ca C3 No 59 K 77

Messell

e. Leersertelnatellnag mit bideet. Wander

rekrupieto dani estrapella negiliare rekrupieto dani estrapella negiliare

resulted of Probability of Manager, Manda etc.

Inng that der Melmart des Standarf.

Inng that der Melmart des Standarf.

Rionds nu tiberprüfer (evil. ml.:

13

Flammenphotometrische Bestimmung (MODELL III)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Berechnung (Ausführung MODELL III):

a. Die ermittelten Meßwerte (Skalenteile) der Standardlösungen a - e der jeweiligen Elemente sind gegen deren Konzentrationen aufzutragen.

b. Die Konzentrationen der Probelösungen sind aus der jeweiligen Eichkurve abzulesen.

1 mÄqu.Ca/l = 2,00 mg Ca/100 ml 1 mÄqu.Na/l = 2,30 mg Na/100 ml 1 mÄqu.K/l = 3,91 mg K/100 ml

Anm	erk	une	en:

ALLE STATE OF THE STATE OF THE

Control Control of the Control of th

nate (transport of the state of the Standard Con-

ntertdonen der Prot Maingen afind aus der jebois-

Em 007\20 gm 00,5 Ed 005\ni sn 0 .5 au 007\II gm re.6

e de mitter des complete des completes de la complete de la comple

,

Flammenphotometrische Bestimmung (FLAPHO 4 u. MODELL III)

Plasma Serum M 01.2 M 03.1 M 04.1

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT I	Ebersw	alde-Fi	now, 19'	78	
Wiederauffindung (%):			Ca	Na	K	
	FLAPHO MODELL		}	98 - 10	0	
Präzision: in der Serie: s %:						
(n = 20)			Ca	Na	K	
	FLAPHO MODELL		}	₹ 2,0	4 2,0	
von Tag zu Tag: s %: (n = 20)			Ca	Na	K	
	FLAPHO MODELL		}	4 3,0	\$ 3,0	
Probenanzahl/Tag · AK:			mind. 30 achbest:		n)	

Verbindlichkeitstermin: 1

1. 03. 1979

TEN Edineport dia Flavor. 1973

THE MESON

SERVINO A CONTRACTOR CONTRACTOR ASSOCIATION ASSOCIATIO

DESCRIPTION OF THE PROPERTY AND ADDRESS OF THE PARTY AND ADDRESS OF THE

060 - ba 18 (nomenament of the straig)

1

MAGNESTUM

M 02.2.S

Magon-Siebtest:

Magnesium-Ionen bilden in wäßrig-alkoholischer Lösung bei pH 9 - 10 mit Magon eine rotviolette Komplexverbindung.

Serum, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Triathanolamin		s. u. 3!
2	Magon (x)		
3	Testlösung		Zu 10 ml Triäthanolasin werden 10 mg Magon gegeben; Lg. mit bidest. Wasser zu 100 ml auf- füllen.
			Haltbarkeit: mind. 2 Wochen. Achtung! Die Testlösune maß blau sein. Bei Rotfärbung ist das Triäthanolemin durch Ds- stillation unter verminderten Druck zu reinigen (Apt 200 00 bei 10 Torr).
4	Mg-Standard-Lg.	0,75 mM	a. Testalampulle "M/10 MgCl2" auf 1 000 ml Lg. auffüllen. Oder:0,403 g Magnesiumoxid p.a. in wenig halbkonz. Salzsäure lösen; mit dest. Wasser zu 100 ml Lg. auffüllen.
			b. 0,75 ml Lg a mit dest. Nac- ser zu 100 ml Lg. auffüllen

(x) Magon = Natriumsalz der 1-Azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethyl-karboxyanilido)-naphthalin-1-(2-hydroxybenzol)-4sulfonsaurs (C25H20N3O6SNa)

Reg. For personal independental register of mobiles.

(1 granteterna).

Para I I and a second of the formation of the second of th

And the second and th

THE PART OF THE PARTY OF THE PARTY OF

Alber . was den Doll er ermanne .orginalist ens : Xaylo man o mil 180 ay.O.d es: 180 iya . gal in GOl oa rom

Tydi mil-1.51-1 coorbid S-ora-1 ash plannistal e--o- 1 randyrosiya-0 -1-niladidyan-(obkl (anayogaya) ombanotima.

Ausführung:

	Geräta	Ausführung			Anmer- kungen
	APPENDENCE CONTRACTOR		P	St	
7	Tüpfel- platte	10 Al	Serum (Plasma)	10 µl Mg-Standard-Lg.	2
2		+ 150 111	Testlösung		
			mischen.		
3			Farbverglei Standardans	ich zwischen Proben- und eatz.	

Auswertung:

Mit steigender Magnesiumionenkonzentration färbt sich das Reaktionsgemisch zunehmend rot (Linearität im Bereich von 0 - 1 mMol/1).

Ist der Farbton der Probeansätze rötlicher als der des Standardansatzes, so ist deren Magnesiumionenkonzentration; 0,75 mM/l = 1,82 mg/100 ml Serum (Plasma).

Anmerkungen:

- 1 Als Antikoagulanz für die Plasmagewinnung nur Heparin verwenden!
- 2 Durch Veränderung der Konzentration der Mg-Standard-Lg. können beliebige andere Grenzwerte eingestellt werden.

The second secon

Transport Transport Transport Transport Line (1997)

of the real restriction and the series of th

mes en properties encodes entires and another entire

were the the repeate the same and and waterland

Was responsible to

MAGNESIUM

Magon-Siebtest

Serum, Plasma

M 02.2.S

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1977

Proben mit einer Mg²⁺-Konzentrationsdifferenz von 0,1 mMol/l (=0,24 mg/100 ml) sind gut voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 700 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

ret mille ensur Ter

our Politication of the contraction of the contraction of the character of

miss. 70c.

and a property

etter .co av

e of there or

mandal and the second second

Bathophenanthrolin-Methode (ohne Enteiweißung):

Durch Zugabe einer überschüssigen Menge Fe²⁺-Ionen zum Serum (Plasma) wird das Transferrin Fe-gesättigt. Danach wird das überschüssige Fe²⁺ zusammen mit basischem Magnesiumkarbonat ausgefällt. Im Überstand ist das proteingebundene Fe entsprechend Methode M 05.1 quantitativ zu bestimmen.

Serum, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Magnesiumchlorid- Lg.	ca. 2 %	20 g Magnesiumchlorid p.a. in 1 000 ml dest. Wasser lösen.
2	Hydroxylammonium- chlorid p.a.		
3	Natronlauge	30 %	30 g Natriumhydroxid p.a. in 70 ml dest. Wasser lösen.
4	Eisessig p.a.		
5	Emulgator-Lg.		180 g EMULGATOR E 30 in 400 ml heißem dest. Wasser lösen, 300 ml Magnesiumchlorid-Lg. und danach soviel Natronlauge (max. 2 - 3 ml) zugeben, daß das Mg als Mg (OH)2 ausfällt. Am nächsten Tag filtrieren. 20 g Hydroxylammoniumchlorid in wenig dest. Wasser zugeben. Lg. mit Eisessig auf pH 5 einstellen, kühl aufbewahren. Lg. vor Gebrauch mit gleichen Volumenteilen bidest. Wasser verdünnen.
6	Bathophenanthrolin Lg.		25 mg Bathophenanthrolin-di- sulfonsaures-Na in 10 ml dest. Wasser lösen.
7	Natriumkarbonat- Lg.	0,6 M	17,8 g Natriumkarbonat (Na ₂ CO ₃ · 10H ₂ O) in dest. Was- ser lösen und zu 100 ml auf- füllen.
8	Magnesiumsulfat- Lg.	0,6 M	14,8 g Magnesiumsulfat p.a. (MgSO4 · 7H2O) in dest. Wasser lösen und zu 100 ml auffüllen.

The special control of the control o

The article to the state of the

.....

M 8.0

w 700

in the second

olisia Vav

Serum Plasma

M 05.1.1

Reagenzien (Fortsetzung):

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
9	Eisen-Lg.	2 mg/ 100 ml	140,8 mg Ammoniumeisen(II)- sulfat p.a. ((NH4)2 Fe (SO4)2 6 H20) in dest. Wasser lösen und zu 1 000 ml auffüllen. 2 Tropfen konz. Schwefelsäure zugeben.
10	Eisen-Standard- Lg.	1 mg/ 100 ml	70,4 mg Ammoniumeisen(II)- sulfat p.a. ((NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ · 6 H ₂ O) in dest. Wasser lösen und zu 1 000 ml auffüllen. 2 Tropfen konz. Schwefelsäure zugeben. Für die Eichkurve 0,5, 1,0 3,0 ml Lg. mit dest. Wasser zu 10 ml auffüllen (≘ 175, 350 1 050 µg Fe/100 ml) Haltbarkeit der verdünnten Eichlösungen: mind. 3 Tage

Horard Land

Total Land

Horard Land

140,8 mg Arrorder

Pulled La College

Pulled La College

Rangerin

Rangerin

Sulfat o.a. (La) 286650

College

Rangerin

Rangerin

Rangerin

Rangerin

Sulfat o.a. (La) 286650

Rangerin

Ra

een 18 prot

' (e

Ausführung:

A. Sättigung des Transferrins mit Eisen-Ionen :

	Geräte		Ausführung	Anmer- kungen
		Р	$\mathtt{L}_{\mathtt{P}}$	
1	PA	0,2 ml + 0,1 ml	Serum 0,2 ml Serum (Plasma) Eisen-Lg. + 0,1 ml dest. Wasser mischen, 10 Min. im Wasserbad (37 °C) erwärmen.	
2			Natriumkarbonat-Lg. Magnesiumsulfat-Lg. mischen, nach 35 Min. zentrifu- gieren, Überstand weiter nach B verar- beiten.	

[arid arter | [arid | [arid |]

Trensfrables of Reco-Tener;

Augustan C. 2 of Server (C. 7 of C. 7

Ausführung (Fortsetzung):

B. Bestimmung des Transferrin-Eisens:

	Gerate	Ausführung			
A CONTRACTOR OF THE PARTY OF TH	H-RG	0,9 ml Emulgator-Lg.			
	ijen, edited amendesejtherryggett filmstijenenkommentijen, ever et	P L _F St L _{St}			
2		+ 0,3 ml + 0,3 ml + 0,3 ml + 0,3 ml Überstand Überstand Fe-Stand dest. aus A aus A Eichlg. Wasser	4, 5		
		+ 0,03 ml + 0,03 ml + 0,03 ml + 0,03 ml Bathoph dest. Lg. Wasser Lg. Wasser	6		
		mischen.			
		Nach mind. 30 Min. P gegen Lp und St gegen L _{St} bei 535 nm photometrieren.			

Berechnung:

- a. Die Extinktionen der Fe-Standard-Ansätze (Eichpunkte) sind gegen deren Fe-Konzentrationen aufzutragen (Anmerkung 2).
- b. Die totale Eisenbindungskapazität der Proben ist auf der Eichgeraden abzulesen.
 Angaben in jug Fe/100 ml Serum (Plasma).

epalar hidden allan (2003)

Coco Constant See 125

A created to the sea to

sufaces from the fire

aus A sal + 0.0 al + 0.3 al +

assert a a francis.

Madi mind. of Min. P. graj. Wid 57 gages ..., Dai 4 : Motostriares.

re zgocka) tribera-brehents-en res genektiche.

ie Pro Soi redord reb 78thangelandbidmod Let 997 997

.a remain 1 prijet P. Aga

Anmerkungen:

- Als Antikoagulanz für Plasmagewinnung Heparin verwenden!
- 2 Die Emulgator-Lg. darf sich bei Zusatz von Bathophenanthrolin-Lg. höchstens noch schwach rosa färben. In solenen Fällen verläuft die Eichkurve nicht durch den Koordinatenursprung.
- 3 Vor dem Zusammengeben sind die Emulgator-Lg. und das Serum (Plasma) auf Zimmertemperatur zu erwärmen.
- Sollten nach dem Zusatz von Serum (Plasma) zur Emulgator-4 Lg. Trübungen auftreten, dann ist der pH-Wert der Emulgator-tor-Lg. zu überprüfen; nötigenfalls ist er mit Natronlauge bis auf 5,5 zu erhöhen.
- Für jede Probe ist ein gesonderter Lp zu bereiten. 5
- Die zugesetzte Menge Bathophenanthrolin-Lg. 1st eusreinasho für Pe-Konzentrationen bis 1 750 ug Fe/100 ml (totale Pe-Bindungskapazität)

Methodenmerkmals:

Methodenbearbeitung: IaT Eberswalds-Finow, 1974

Wiederauffindung:

Präzision: a. in der Serie: 8 % \ 4.0 (n = 20)

b. von Tag zu Tag: (n = 20)

s % & 6.0

Probenanzahl/Tag . AK:

(Doppelbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

ANORGANISCHES PHOSPHAT

M 06.2.S

Siebtest:

Phosphat-Ionen werden mit Molybdat zu Molybdatophosphorsäure umgesetzt, die mit Malachitgrün eine blaugrüne Additionsverbindung ergibt.

Plasma, Serum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Polyvinylalkohol- Lg.	0,5 g/ 100 ml	0,5 g Polyvinylalkohol in 90 ml dest. Wasser durch Erwärmen lösen. Nach dem Abkühlen zu 100 ml auffüllen.
2	Malachitgrun-Lg.	5 mM	182 mg Malachitgrün in 100 ml Polyvinylalkohol-Lg. lösen.
.3	Ammoniummolybdat- Lg.	10 mM	1,235 g Ammoniummolybdat ((NH ₄)6Mo ₇ O ₂ 4 · 4 H ₂ O) in 50 ml dest. Wasser lösen; 50 ml konz. Salzsäure p.a. zugeben. Haltbarkeit: mind. 4 Wochen
4	Testlösung		10 ml Malachitgrün-Lg. mit 8 ml Ammoniummolybdat-Lg. mi-schen; mit dest. Wasser zu 100 ml auffüllen. Vor Gebrauch 30 Min. stehenlassen. Haltbarkeit: mind. 2 Wochen (Plasteflasche!)

fald fall the meters to a some

Come. Selvanda and the communication of the communi

tion of the constant in or

althorized that of

,

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	Misch- platte	200 al dest. Wasser	1
		P St	
2		+ 10 µl Plasma + 10 µl Testplasma (Serum) (-serum)	2
		mischen.	
3	Tüpfel- platte	20 al Verdünnung + 130 al Testlösung	3
		mischen.	
4		Nach 30 Min. visuelle Einschät- zung der Farbintensität der Pro- beansätze.	

Auswertung:

Die Farbintensität der Ansätze ist proportional der Phosphatkonzentration im Plasma bzw. Serum.

Die Farbintensität der Probeansätze wird gegen die des Standardansatzes visuell eingeschätzt.

etersibil der Ansktes ist proportional der Musucal eten in Plasma bew. Serve.

. Tradition of Line 1 and the contract of the

ANORGANISCHES PHOSPHAT

Siebtest

Plasma, Serum

M 06.2.S

Anmerkungen:

- Die bereitete Serumverdünnung kann auch für den Glukose-Siebtest (K 01.2 S), den Gesamt-Eiweiß-Siebtest (E 01.2 S) und den & -Globulin-Siebtest (E 03.1 S) eingesetzt werden.
- 2 Als Testplasma (-serum) sind Proben mit einer Phosphatkonzentration an der unteren Grenze des Normbereiches zu verwenden. Standardlösungen oder mit Wasser verdünnte Plasmaproben sind nicht einzusetzen!
- Die Zugabe der Testlösung zu allen angesetzten Verdünnungen muß schnell und ohne zeitliche Verzögerungen erfolgen.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1977

Proben mit Phosphatkonzentrationsdifferenzen von 1 mg/100 ml sind gut voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 500 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979



NETTO-SÄURE/BASE-AUSSCHEIDUNG (NSBA)

M 10.1

Säure-Base-Titration:

Definiert angesäuerter Harn wird nach Zugabe von Formalin mit Natronlauge gegen Phenolrot titriert.

Harn (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Salzsäure	1 N	Testampulle (HCl; 1 N) mit dest. Wasser zu 1 000 ml auffüllen.
2	Natronlauge	0,1 N	Testampulle (NaOH; 0,1 N) mit dest. Wasser zu 1 000 ml auffüllen.
3	Formaldehyd-Lg.	ca. 20 %	1 000 ml ca. 30 %ige Formalde- hyd-Lg. mit 500 ml dest. Was- ser verdünnen; pH-Wert auf 6 - 8 (Indikatorpapier!) einstel- len.
4	Indikator-Lg.	0,1 %	O,1 g Phenolrot in ca. 20 ml Äthanol lösen (evtl. erwär- men); mit dest. Wasser zu 100 ml auffüllen.
5	NSBA-Standard- Harn		Mischharn von 5 - 10 Kühen (s. Anmerkung 1) gewinnen und in 15 ml-Portionen bei <-12 °C aufbewahren .

and with mach fugate you Formain til

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P St	
1	Becher- glas	10,0 ml Harm 10,0 ml NSBA-Stand. Harn + x ml Salzsäure + y ml Salzsäure mischen; 30 Sek. kochen; abküh- len lassen.	2, 3
2		+ 10,0 ml Formaldehyd-Lg. + 0,2 ml Indikator-Lg. mischen.	The state of the s
3		Mit Hatronlauge bis zum Emschlag mach rot/orange titrieren.	and the same of th

Berechnung:

(V_{Salzsäure} - V_{Natronlauge}) • 10 = x mÄqu. NSBA/1000 ml Harn

Anmerkungen:

- Nur Spontan- oder Katheterharn verwenden. Harmentnahme bis
 3 Stunden nach der Fitterung!
 Alter der Tiere u. Reproduktionsstadium beachten (3. 6.
 Laktation; 14. 200. Melktag)
 Max. Lagerzeit der Proben bis zur NSBA-Bestimmung:
 Raumtemp.: 6 Stunden; 2 5 °C: 3 Wochen; 4 -12 °C: 1 Jahr.
- 2 Harn vor dem Einsatz mischen und auf Raumtemp. erwärmen.
- Jeder Probe sind gesondert soviel ml (x, y, ...) Salzsäure zuzugeben, daß ein pH-Wert & 4,0 erreicht wird (mit Indikatorpapier prüfen!).
- 4 Bei stark gefärbten Probelösungen ist eine potentiometrische Titration anzuraten.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	Sektion Tierprod./Veterinärmadizin; Fachgruppa Innare Madizin der KMU Leipzig; 1977
Wiederauffindung:	98 - 100 %
Prazision: in der Serie: (n = 20)	s % \$ 1,0
von Tag zu Tag: (n = 20)	s % (1, 0
Probenanzahl/Tag · AK:	mind. 100 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

responded to the terms of the contract of the

old amazzitovicali , relatevical tradical edito colo - it

Piere u. Reproduk onaskudius beschien (). - 6

dem Bilder atfolies, and out Esuptent reasons.

jefffiles Probellsungen ist eine 'n ovion.:

Beltzon Parprod./Veterinary

201

U. T. A. W. S.

anuigealtetalantala

1: 03: 1979

NETTO-SÄURE/BASE-AUSSCHEIDUNG (NSBA)

M 10.1.S

Siebtest:

Harn wird mit einer definierten Menge Salzsäure angesäuert und aufgekocht. Nach Zugabe von Formalin-Lösung und unterschiedli-chen Mengen Natronlauge erlaubt die Färbung des Indikators Phenolrot eine Einschätzung der NSBA.

Harn

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Salzsäure	1 N	Testalampulle "1 N HC1" mit dest. Wasser zu 1 000 ml auf- füllen.
2	Natronlauge	1 N	Testalampulle "1 N NaOH" mit dest, Wasser zu 1 000 ml auf- füllen. Anmerkung 1.
3	Phenolrot-Lg.		0,1 g Phenolrot in 20 ml Athe- nol (40 °C) lösen und mit dest Wasser zu 100 ml Lg. au füllen
4	Pormalin-Lg.	ca. 20 %	26 ml Formalin DAR 7 (30 Mig) mit 10 ml dast. Wasser ver- dünnen.
5	Formalin- Phenolrot-Lg.		10 ml Formalin-Lg. mit 0,2 ml Phenolrot-Lg. mischen und mit Natronlauge neutralisieren (auf Mischfarbs rotorange ein- stellen!).

Ausführung:

	Geräte		Ausführung		
Q	H-RG	500 µl + 100 µl	Harn Salzsäure	2, 1	
			mischen. Im Heizblock (120 °C) ca. 1 Min. erhitzen; auf Zimmertemp. abkühlen.		
2		+ 500 21	Formalin-Phenolrot-Lg.		
			mischen.		
3		+ 50 ul Natronlauge	Natronlauge	4	
			mischen. Farbeinschätzung A (bleibt die Mischung zitronengelb, dann Schritt 4 anschließen!)		
4		الير 50 با	Natronlauge	A	
			mischen. Farbeinschätzung B		

Auswertung:

Farbeinschätzung	Färbung	NSBA (mVal/1)	Aussage nach KUTAS
A	rot gelb	> + 100	normal
В	rot gelb	0 - 100	azidot. Belastung metabol. Azidose

e germanic 1911 germanic 37 conditi

Min. eristtens out I menera

900 al Penalth-Phen brot-ig.

mischen.

spusiarrabil in 08

edecon. E suainacht rung (Coulot all isonung ass en

the hit was accepted.

d prostationaledas

253752 Cares services established

x 850% 75%

governmen , for the

/

NETTO-S	ÄURE	/BAS	SE-A	USS	SCHE	IDUNG
	()	NSB	(F			

Siebtest

Harm

M 10.1.S

Anmerkungen:

- Gleiche Volumina 1 N Salzsäure und 1 N Natronlauge mischen und mit 1 - 2 Tropfen Phenolrot-Lg. versetzen. Die Mischung muß sich rotorange (Mischfarbe des Indikators!) anfärben.
- Harn nicht filtrieren. Vor Einsatz mischen. 2
- Der Harn soll nach dem Zusatz von Salzsäure einen pH-Wert 4 besitzen.
- Durch portionsweise Zugaben von 10 µl Natronlauge kann im 4 Bedarfsfall die NSBA auf 20 mVal/l genau bestimmt werden.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1976

Harnproben mit einer NSBA-Differenz von 10 - 20 mVal/l sind am Äquivalenzpunkt gut voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 400 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

Siebtest:

Die AR ist die Gesamtmenge des durch Säure freisetzbaren CO2 im Vollblut bzw. Blutplasma (in Vol.%). Beim Siebtest diffundiert das freigesetzte CO2 in eine definierte Menge Natronlauge be-kannter Konzentration. Beim Überschreiten des unteren Grenzwertes wird gleichzeitig der Äquivalenzpunkt der Säure-Base-Reaktion durchlaufen; der zugesetzte Indikator Phenolphthalein schlägt von rot nach farblos um.

Vollblut, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung			
	Zum Ansetzen der Reagenzien ist destilliertes Wasser (vor Gebrauch nochmals auskochen!) zu verwenden. Die Vorratsflaschen müssen luftdicht verschließbar sein.					
1	Natriumbikarbonat- Standard-Lg.	0,02 N	0,168 g Natriumbikarbonat (NaHCO3) in Wasser lösen; zu 100 ml auffüllen.			
2	Schwefelsäure	ca. 10 %ig	Zu 89 ml Wasser vorsichtig 6 ml konz. Schwefelsäure geben.			
3	Natronlauge	0,05 N	Testalampulle "0,1 N Natronlauge" mit Wasser zu 2 000 ml Lg. auffüllen.			
4	Testlösung		In 10 ml Natronlauge 10 mg Phenolphthalein lösen. Haltbarkeit: ca. 2 Tage bei 2 - 5 °C im Glas- gefäß.			

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PA- Deckel m. Filter- papier	20 µl Testlösung	2, 3
2	M-RG m. Filter- papier	50 Al Schwefelsäure	
		P St	
3		+ 50 µl Vollblut + 50 µl NaHCO3-Stand. (Plasma) Lg.	2, 3,
		sofort (!) den PA-Deckel mit der Testlösung umgekehrt auf das M-RG fest aufsetzen.	5
4		Nach 1 Stunde visuelle Einschät- zung der Farbintensitäten.	

Auswertung:						
Färbung	AR	S-B-Haushalt				
rot (bzw. farbintensiver als der Standardansatz)	4 44,8 Vol.%	gestört (Azidose)				
farblos (bzw. farbschwächer als der Standardansatz)	> 44,8 Vol.%	normal				
Umrechnung: mVal HCO3 7/1 = Vol.% CO2 x 0,449						



Anmerkungen:

- Das Blut ist aus einer ungestauten Vene zu entnehmen. Beim Anritzen einer Ohrvene kann das Blut direkt mit einer Mikroliterpipette abgenommen werden. Ansonsten wird eine PA, die 30 al Heparin und 1 kleine Schrotkugel enthält, bis zum oberen Rand mit Blut gefüllt, sofort verschlossen und geschwenkt. Die Messung muß innerhalb von 2 Stunden (Lagerung über Eis!) erfolgen. Bei Verwendung von Plasma ist entsprechend zu verfahren. Das Plasma muß sofort nach der Blutentnahme gewonnen werden!

 Die AR des Vollblutes ist ca. 4 Vol.% niedriger als die des Plasmas.
- Als Filterpapier Chromatographiepapier FN 2 verwenden. In den PA-Deckel ein mit einem Bürolocher ausgestanztes Papierstück einlegen und mit Testlösung tränken. In das M-RG wird ein Papierstück 20 x 25 hochkant als Röllchen eingebracht. Die Schwefelsäure und das Vollblut (Plasma) bzw. die Standard-Lg. werden auf das Papier pipettiert.
- 3 Es ist darauf zu achten, daß die aufgesetzten PA-Deckel dicht schließen und keinerlei Beschädigungen (Risse, Löcher) aufweisen. Passende M-RG vor Gebrauch heraussuchen!
- Durch Aufgeben anderer Volumina an NaHCO3-Standard-Lg. kann die Konzentration der Testlösung überprüft werden. Es müssen sich folgende Färbungen ergeben:

45 µl Stand.-Lg. \(\ho \) 40,3 Vol.% CO2 = rot 55 µl Stand.-Lg. \(\ho \) 49,3 Vol.% CO2 = farblos

Es ist zu vermeiden, daß Atemluft des Untersuchers (CO2!) in die M-RG bzw. PA-Deckel gelangt. Die Probeansätze sind sofort (!) zu verschließen.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow, 1977

Proben mit einer AR-Differenz von 5 Vol.% CO2 sind deutlich voneinander zu unterscheiden.

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 400 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

0888

De nomme

ere line

: M.A.

Pikrinsäure-Methode:

Kreatinin bildet mit Pikrinsäure in alkalischer Lösung eine orangerote Komplexverbindung.

Serum, Plasma, Harn (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Pikrinsäure-Lg.		2,0 g umkristallisierte Pi- krinsäure durch Erhitzen in 100 ml dest. Wasser lösen. Nach 24 Stunden Lg. vom Bodenkörper abdekantieren. (Umkristallisieren von Pikrin- säure: 1 Teil Pikrinsäure durch Er- hitzen in 1,5 VolTeilen Eis- essig lösen; eine Spatelspitze Aktivkohle zugeben; 3 Min. un- ter Rühren weiter erhitzen. Heiß filtrieren. Nach dem Ab- kühlen Pikrinsäure-Kristalle absaugen und feucht in brauner Glasflasche aufbewahren).
2	Salzsäure	ca. 0,1 N	8,3 ml Salzsäure p.a. (37 %) mit dest. Wasser zu 100 ml auf- füllen.
3	Natronlauge	ca. 0,25 N	10 g Natriumhydroxid p.a. in dest. Wasser lösen; zu 100 ml auffüllen.
4	Kreatinin- Standard-Lg. a	100 mg/ 100 ml	50 mg Kreatinin p.a. (über Phosphorpentoxid getrocknet)
5	Kreatinin- Standard-Lg. b	0 /	in 0,1 N Salzsäure zu 50 ml Lg. lösen. 1 ml der Kreatinin-StandLg. a mit 0,1 N Salzsäure zu 50 ml auffüllen.

FORWARI

(Rame (Ammerbing 1)

"ETER

guni laturali

2.0 g umkritifilelerte Plank krissker durch Krhiuge im M dest, Wesser Tones Nach S Stunden Lg. von Bodenkörser. Schöften Lg.

Whire tallieteren vor

: 841463

I Teil Pikrineäure euron Wr bitren in 1,5 Vol -Teilon eesig läeen: eine Spat lärnit mitiviohle sugaben: 3 Min. un ter Hähren werter erhite. Heis filtrieren, Nach ten 1 kübles likringen. Nach ten 1 kübles likringen.

> 8.3 ml Salsekure p.a. (37 sit dest. Wasser m 130 füllen.

10 . Natr wabydu-zid p.a. dest. Veser läsen: zu 'in za auffüllen.

50 og Krestinda 73. Hbet Phosphorpente Li getreg est in 0,1 M Salkesure en 50 m Lg. ideen.

1 ml der Kreutinin-Stemt.-Ird. auf 10.1 H Beleskure au

rerid

KREATININ

Pikrinsäure-Methode

Serum, Plasma

N 01.1

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	1,0 ml Pikrinsäure-Lg.	
2		P L St + 0,3 ml + 0,3 ml + 0,3 ml Serum Wasser KrStand (Plasma) Lg. b schütteln (30 Sek.). 15 Sek. im kochenden Wasserbad erh.; in kaltem Wasser abkühlen; zentrifugieren.	
3	H-RG	0,8 ml Überstand + 0,7 ml Natronlauge mischen; dunkel stellen.	
4		Nach 20 Min. P und St gegen L bei 530 nm photometrieren.	

Berechnung:

$$\frac{E_{P}}{E_{St}}$$
 . 2 = x mg Kreatinin/100 ml Serum (Plasma)

Austrians

1.0 of Pictinssups-Eg.

2.0 of Pictinssups-Eg.

2.0 of Pictinssups-Eg.

2.0 of Pictins (20 Set.). 15 Set.

2.1 of Pictins (20 Set.). 15 Set.

2.2 of Pictins Pictins order.

2.3 of Pictins Pictins order.

2.4 of Pictins Pictins order.

2.5 of Pictins Pictins order.

2.6 of Pictins Pictins order.

2.7 of Pictins Pictins order.

2.8 of Pictins Pictins order.

2.9 of Pictins Pictins order.

2.9 of Pictins Pictins order.

2.9 of Pictins Pictins order.

2.1 of Pictins Pictins order.

2.2 of Pictins Pictins order.

2.3 of Pictins Pictins order.

2.4 of Pictins Pictins order.

2.5 of Pictins Pictins order.

2.6 of Pictins Pictins order.

2.7 of Pictins Pictins order.

2.7 of Pictins Pictins order.

2.8 of Pictins Pictins order.

2.9 of Pictins Pictins order.

2.0 of Pictins Pictins order.

2.1 of Pictins Pictins order.

2.2 of Pictins Pictins order.

2.3 of Pictins Pictins order.

2.4 of Pictins Pictins order.

2.5 of Pictins Pictins order.

2.6 of Pictins Pictins order.

2.7 of Pictins order.

2.7 of Pictins Pictins order.

2.7 of P

2 = 5 mg/Highblustn/100 ml Bertin (Hestor)

KREATININ

Pikrinsäure-Methode

Harn

N 01.1

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH (H-RG)	1,00 ml Pikrinsäure-Lg.	
		P L St	
2		+ 0,01 ml + 0,01 ml + 0,01 ml Harn Wasser KrStand Lg. a	2
		mischen.	
3		+ 0,80 ml Natronlauge	
		mischen; dunkel stellen.	
4		Nach 20 Min. P und St gegen L bei 530 nm photometrieren.	

Berechnung:

$$\frac{E_{P}}{E_{St}}$$
 . 1 000 = x mg Kreatinin/1 000 ml Harn

meteorial man

T. On al Miletare Const.

ong compring in a commence with the commence of the complete translation of the commence of th

10.04 2 +0.04 Waterst 101, 48 teams

decines.

expelorated in 05,0 4

edgenen; Anniel stellen.

Ment 20 LA : A und St rogen L bei 530 ma shotometrieren.

ros in 600 hainistes and Ros

KREATININ

Pikrinsäure-Methode

Serum, Plasma Harn

N 01.1

Anmerkungen:

- Für die Bestimmung ist zentrifugierter Harn (max. Lagerzeit: Zimmertemp.: 2 Tage; 2 5 °C: 4 Wochen) zu verwenden. Eingefrorene und wiederaufgetaute Harnproben sind nicht einzusetzen.
- 2 Ende der Pipettenspitze in die Pikrinsäure-Lg. eintauchen und durch Aufziehen und Ausstoßen der Reaktions-Lg. ausspülen.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT Eberswalde-Finow, 1974, 1978
Wiederauffindung:	97 - 101 %
<u>Präzision:</u> in der Serie: (n = 20)	s % 🐇 2,0
von Tag zu Tag: (n_= 20)	s % 3,0
Probenanzahl/Tag · AK:	mind. 150 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:	1. 03. 1979

Modifizierte Diazetylmonoxim-Methode:

Diazetyldioxim wird teilweise hydrolysiert. Das entstehende Diazetylmonoxim bildet mit Harnstoff eine gelbe Komplexverbindung.

Serum, Plasma (Anmerkung 1)

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Diazetyldioxim- Lg.		1 g Diazetyldioxim (= Dimethyl- glyoxin) in 91 ml abs. Äthanol lösen; 23 ml dest. Wasser zu- geben.
2	Schwefelsäure- Lg.		Zu 0,5 g Phenazon u. 0,45 g Eisen(II)-ammoniumsulfat 60 ml dest. Wasser u. 15 ml. konz. Schwefelsäure p.a. (Vorsicht!) geben. Nach vollständigem Auflösen mit dest. Wasser zu 100 ml auffül- len.
3	Perchlorsäure- Lg.	ca. 0,5 N	48 ml 70 %ige Perchlorsäure in ca. 900 ml dest. Wasser ein-fließen lassen; zu 1 000 ml auffüllen.
4	Harnstoff- Standard-Lg.	40 mg/ 100 ml	40 mg Harnstoff (über Phosphor- pentoxid getrocknet) in dest. Wasser zu 100 ml Lg. lösen.

isheddell-almononintessid Tining

Atoxia wird tellweise hydrolystory. Dea anteishende monorim bildet mit Harmstory eine gelbe Mouplawerbin-

e (Anmerknag 1)

Romatallung

g Diesctyldioxim for lyoxim for the state of the state of

20 0.5 m Pheneron u. 0:45 g Eisen(II)-emmoniumenlist 50 ml dest. Wasser u. 15 .. kon Schweislebure p.s. (Vorsich geben.

Heet Wasser so 100 at 11ffff. Ien.

48 ml 70 Sige Perchlorement of the control of the c

40 mg Harristoff (Moor Phrzymor automic getrocknet) is dest.

Serum Plasma

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PA	1,00 ml Perchlorsäure-Lg.	
		P L St	
2		+ 0,02 ml + 0,02 ml + 0,02 ml Serum Wasser Harnst (Plasma) StLg.	
		schütteln (1 Min.); zentri- fugieren.	
3	РН ❤	0,30 ml Überstand + 0,20 ml Diazetyldioxim-Lg. + 1,00 ml Schwefelsäure-Lg.	2
		mischen; 30 Min. im kochenden Wasserbad erhitzen. Abkühlen lassen. 20 Sek. zentrifugieren (T 30).	3
4		P und St gegen L bei 470 nm photometrieren.	

Berechnung:

 $\frac{E_{P}}{E_{St}}$. 40 = x mg Harnstoff/100 ml Serum (Plasma)

Slaks ?

HARNSTOFF

Modif. Diazetylmonoxim-Methode

Serum Plasma

N 02.1

Anmerkungen:

- Die Proben sind möglichst umgehend aufzuarbeiten. Eingefro-rene und wiederaufgetaute Proben ergeben im allgemeinen zu niedrige Harnstoffkonzentrationen. Enteiweißte Proben können bis zur Bestimmung mehrere Tage bei 2 - 5 °C aufbewahrt werden.
- Für den Arbeitsschritt 3 werden Plastehülsen 10 ml (PH*) verwendet. Beim Erhitzen der Reaktionsmischung sind die Plastehülsen mit einem Plastedeckel, der in der Mitte mit einer Nadel durchstochen wird, zu verschließen.
- 3 Durch das Zentrifugieren werden die Kondensattropfen im Oberteil der PH* in die Reaktionsmischung zurückbefördert.

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:	IaT Eberswalde-Finow, 1978
Wiederauffindung: Präzision: in der Serie: (n = 20) von Tag zu Tag: (n = 20)	95 - 100 % s %
Probenanzahl/Tag · AK:	mind. 150 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:	1. 03. 1979

CARR-PRICE-Methode:

Antimontrichlorid bildet mit Vit. A in Chloroform eine intensiv blaue Anlagerungsverbindung.

Leber, Kolostrum

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Kon	z.	Herstellung
1	Chloroform DAB 7			2 x mit dest. Wasser waschen, mit Na ₂ SO ₄ trocknen, fraktio- niert destillieren (Kp. 61,2 oc).
2	Natriumsulfat DAB 7 (wasserfrei)			
3	Essigsäureanhydrid reinst			
4	Antimon(III)- chlorid-Lg.			25 g SbCl3 (zur Vitamin A-Bestimmung) in 100 ml Chloroform im Erlenmeyerkolben unter Erwärmung (Wasserbad) lösen, mit Na2SO4 trocknen, lichtgeschützt bei 2 - 5 °C lagern. Vor Gebrauch vom evtl. Bodenkörper abdekantieren u. zu 50 ml Lg. 1 ml Essigsäureanhydrid geben. Achtung! Lg. ist extrem wasserempfindlich. Verschlossen aufbewahren!
5	Äthanol	96 9	%	
6	Kalilauge	30 %	76	30 g Kaliumhydroxid p.a. in 70 ml dest. Wasser lösen.
7	Trichloressig- säure-Lg.	10 9	%	10 g Trichloressigsäure in 90 ml dest. Wasser lösen.
8	Kupfersulfat-Lg.			8 g Kupfersulfat in 100 ml dest. Wasser lösen. 1 ml konz. Salzsäure zugeben.
9	Cyclohexan rein			Fortsetzung Blatt 2

VI	TA	MI	N	A

CARR-PRICE-Methode

Leber Kolostrum

V 01.1

Reagenzien (Fortsetzung):

10	Vit.A- Standard-Lg. a	300 IE/ ml	1 Kapsel Vit.A-Alkohol Jena- pharm (30 000 IE) wird unter Cyclohexan aufgeschnitten und mit Cyclohexan zu 100 ml Lg. aufgefüllt.
11	Vit.A- Standard-Lg. b	60 IE/ ml	10 ml Vit.A-Lg. a mit Cyclo- hexan auf 50 ml auffüllen. Haltbarkeit: 1 Woche.
12	Vit.A- Standard-Lg. c	6 IE/ml	1 ml Vit.A-Lg. a mit Cyclo- hexan auf 50 ml auffüllen. Haltbarkeit: 1 Woche.
	Die Vit.A-Standard- 2 - 5 °C aufzubewah		sind in dunkler Flasche bei

In den Arbeitsvorschriften werden folgende zusätzliche Abkürzungen verwendet:

> Cyclohexan; KOH: Athanol C-h.: Äth.:

Kalilauge

Prince

and incertibed the longer of the correction of the correction and the correction and the correction and the correction and the correction of the correction

-cloud times . p.i-A. Jiv im Of - AZI OZ . nelfittue im OZ tue metrod im

oford the a .pl-A. JEV in I fa\Hi .mail line in Of los manad .adooV I itterredital

ted reper sind in dunite name best best

tevers pirten worden folgende meditaliebe lbkir

loberen; KOH: Kalilange

VITAMIN A

CARR-PRICE-Methode

Leber

V 01.1

Ausführung:

A. Verseifung der Leber:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	1,0 g Leberhomogenat + 1,0 ml Kalilauge PH mit Innendeckeln verschließen. 30 Min. bei 60 °C erhitzen (AlBlock); auf Raumtemp. abkühlen (Wasserbad). Lg. weiter nach B. verarbeiten.	1

B. Extraktion und Bestimmung des Vitamin A:

	Geräte	Ausführung				
		P L St				
1	PH	Lg. aus A. 1,0 ml KOH 1,0 ml KOH + 1,0 ml Äth. + 1,0 ml Äth. + 1,0 ml Äth. + 1,5 ml C-h. + 1,5 ml C-h + 1,5 ml Vit A-Stand Lg. b				
		PH mit Innendeckeln verschließen. 2 Min. schütteln (Schüttelmaschi- ne!), 20 Sek. zentrifugieren.				
2	H-RG	0,05 ml obere Phase + 0,45 ml C-h. + 1,00 ml Antimon(III)-chlorid-Lg.				
3	Meßan- satz ER 1	Nach genau 10 Sek. P und St gegen L bei 620 nm im H-RG photome- trieren.				

Ausführung:

A. Aufarbeitung und Verseifung des Kolostrums:

	Geräte	Ausführung		
1	PH	1,0 ml Kolostrum + 2,0 ml Trichloressigsäure-Lg.		
			PH mit Innendeckeln verschließen; schütteln; 30 Sek. zentrifugieren; Überstand verwerfen.	
2		Rückstand + 0,9 ml KOH		
			PH mit Innendeckeln verschließen. 45 Min. bei 60 °C (Al-Block!) er- hitzen; auf Raumtemp. abkühlen (Wasserbad); Lg. weiter nach B. verarbeiten.	

B. Extraktion und Bestimmung des Vitamin A:

	Geräte	Ausführung				Anmer- kungen
		P		L	St	
1	PH	Lg. aus + 0,9 ml + 1,8 ml	A. 0,9 m Ath. +0,9 m C-h. +1,8 m		ml KOH ml Äth. ml Vit.A- Stand Lg. c	
			2 Min. schüt	ndeckeln vers tteln (Schüt . zentrifugi	telmaschi-	
2	H-RG	0,5 ml + 1,0 ml	obere Phase Antimon(III)-chlorid-Lg.			2, 3
			mischen.			
3	Meßan- satz ER 1		Nach genau 1 gegen L bei metrieren.	10 Sek. P und 620 nm im H-	l St -RG photo-	

Blatt

1.84

Egg by factor free.

ACC.

i als in

e e ...

6.7 Francesor

. 7.

,). e

10 110 In 110

sreg- Tillhookida is Oct

1

VITAMIN A

CARR-PRICE-Methode

Leber Kolostrum

V 01.1

Berechnung:

$$\frac{E_p}{E_{St}}$$
 • F = x IE Vit.A/g (ml)

F = Kolostrum: F = 10.8

1 IE Vitamin A = 0,3 µg Vit.A-Alkohol

Anmerkungen:

- Gefrorene Leber in kleine Stücke zerschneiden und im Homogenisator oder Schlagbecher (geschärfte Messer) homogeni-sieren. Bei Ferkeln ist die gesamte Leber zu homogenisieren.
- 2 H-RG (100 mm lang!) vor Gebrauch mit Kupfersulfat-Lg. optisch prüfen (Extinktionsmessung!). H-RG als Einwegmaterial benutzen!
- Bei Vitamin A-Konzentrationen über 200 IE/g Leber bzw. 3 Extinktionen >0,5 ist der Überstand mit Cyclohexan zu verdünnen! Die Verdünnung ist bei der Berechnung zu berücksichtigen.

F a x 15 Vic. A/z fol

801 = 8:

Concerned at so the file of the

the first in blocker (generality Medecr) sont

(100 mm langt) vor Octronom nit ale s iff the (Extendit of the Commensure).

men 65 Telegrationer, ther 200 TE/s labor need 2005 ist der Uberraund mit Oydlohemen wir Verrillanung ist bed der Berechnum zu berei

Autorope (1995, million and on

VITAMIN A

CARR-PRICE-Methode

Leber Kolostrum

V 01.1

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:		IaT Eberswalde-Finow; 1975
Wiederauffindung:	Leber: Milch:	% %
Präzision: in der Serie: (n = 20) von Tag zu Tag: (n = 20)	Leber Milch Leber Milch	s % \ 4,0 s % \ 4,0 s % \ 5,0 s % \ 9,0
Probenzahl/Tag · AK:		40 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

VITAMIN A V 01.2

Fluorimetrische Bestimmung:

Vitamin A wird nach Verseifung seiner Ester mit Cyclohexan extrahiert. Die Konzentration des Vitamin A wird aus der Differenz der Fluoreszenzintensität des Extrakts vor und nach UV-Bestrahlung berechnet.

Plasma, Leber, Milch

Reagenzien:

Nr.	Reagenz	Konz.	Herstellung
1	Cyclohexan		Fraktioniert destillieren (Kp. 80,8 °C); in dunkler Flasche bei 2 - 5 °C aufbewahren (Fluoreszenzintensität 🕹 3 Einheiten!).
2	Äthanol (unvergällt)	96 %	Fraktioniert destillieren (Kp. 78,3 °C); bei 2 - 5 °C aufbewahren (Fluoreszenzintensität § 3 Einheiten!).
3	Kalilauge	30 %	30 g Kaliumhydroxid p.a. in 70 ml dest. Wasser lösen.
4	Trichloressig- säure-Lg.	10 %	10 g Trichloressigsäure p.a. in 90 ml dest. Wasser lösen.
5	Vitamin A- Standard-Lg. a	300 IE/ ml	1 Kapsel Vitamin A-Alkohol Jenapharm (30 000 IE) unter Cyclohexan zerschneiden und zu 100 ml Lg. mit Cyclohexan auf- füllen.
6	Vitamin A- Standard-Lg. b	6 IE/ml	1 ml Vitamin A-StandLg. a mit Cyclohexan zu 50 ml Lg. verdünnen.
7	Vitamin A- Standard-Lg. c	1,2 IE/ m1	2 ml Vitamin A-StandLg. b mit Cyclohexan zu 10 ml Lg. auffüllen. Lg. täglich frisch bereiten.
			Fortsetzung Blatt 2

rimerack e stansser mir

1

VITAMIN A

Fluorimetrische Bestimmung

Plasma

V 01.2

Reagenzien (Fortsetzung):

8 Vitamin A-Standard.-Lg. d 60 IE/ml 10 ml Vitamin A-Stand.-Lg. a mit Cyclohexan zu 50 ml Lg. verdünnen.

Die Vitamin A-Standard-Lösungen sind in dunkler Flasche bei 2 - 5 °C aufzubewahren.

In dieser Arbeitsvorschrift werden folgende zusätzliche Abkürzungen verwendet:

> C-h.: Äth.:

Cyclohexan Äthanol KOH: H₂O: Kalilauge Wasser Tel T Tomine (T

n pd-.bp:: - nime(ff In O: fd/KI .pd-.bp:: - nime(ff) In O: fd/KI

enten i standord-librangen sind in dunkier i astna

or odalladape chariful nebrow thirduscon

seunfilm (Eff)

Cyclohenen

environ servi

16.

Ausführung:

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	1,0 ml Äthanol in Wasserbad (ca. 15 °C) stellen.	1
2		P L St + 1,0 ml Plasma + 1,0 ml H20 + 1,0 ml H20 + 2,0 ml C-h + 2,0 ml C-h - + 2,0 ml Vit. A-Stand Lg. c	
		PH mit Innendeckeln verschließen; 2 Min. schütteln (Schüttelmaschi- ne), 20 Sek. zentrifugieren. Extrakt umgehend weiterverarbeiten!	
3		Ca. 1,7 ml Extrakt (obere Phase) in Küvette überführen. Fluores- zenzintensität gegen Glasstan- dard messen.	1, 2
4	PH	Extrakt nach der Messung in neue PH zurückgießen. Von oben 15 Min. mit UV-Licht bestrahlen.	1, 3
5		Fluoreszenzintensität des UV- bestrahlten Extrakts messen (s. Arbeitsschritt 3).	1, 2

Berechnung: s. Blatt 8



Ausführung:

A. Verseifung der Leber

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
1	PH	1,0 g Leberhomogenat + 1,0 ml Kalilauge	4
		PH verschließen. 30 Min. bei 60 °C erhitzen (Aluminium-Block). Im Wasserbad auf ca. 15 °C abküh- len. Lg. weiter nach B. verar- beiten	

B. Extraktion und Bestimmung des Vitamin A

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P L St	
1	PH	Lg. aus A. 1,0 ml KOH 1,0 ml KOH + 1,0 ml Äth. + 1,0 ml Äth. + 1,0 ml Äth. + 1,5 ml C-h + 1,5 ml C-h + 1,5 ml Vit. A-Stand Lg. d	1
		PH mit Innendeckeln verschließen; 2 Min. schütteln (Schüttelmaschi- ne). 20 Sek. zentrifugieren. Extrakt umgehend weiterverarbeiten!	
2	PH	2,00 ml C-h. + 0,04 ml obere Phase	1, 2
		mischen; in Küvette überführen; Fluoreszenzintensität gegen Glas- standard messen.	5
3		Lg. in PH zurückgießen; von oben 15 Min. mit UV-Licht bestrahlen.	1, 3
4		Fluoreszenzintensität der UV- bestrahlten Lg. messen (s. Ar- beitsschritt 2).	1, 2

Fluorimetrische Bestimmung V 01.2 VITAMIN A Milch

Ausführung:

A. Aufarbeitung und Verseifung der Milch

Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
PH	1,00 ml Milch + 2,00 ml Trichloressigsäure-Lg. bzw.: 0,25 ml Kolostrum + 0,50 ml Trichloressigsäure-Lg. PH mit Innendeckeln verschließen.	
	Schütteln; zentrifugieren (60 Sek.!). Überstand verwerfen.	
	+ 0,90 ml Kalilauge	
	PH verschließen. 45 Min. bei 60 °C erhitzen (Aluminium-Block). Im Wasserbad auf ca. 15 °C abkühlen. Lg. weiter nach B. verarbeiten.	

Fortsetzung Blatt 6

Ausführung (Fortsetzung von Blatt 5):

	Geräte	Ausführung	Anmer- kungen
		P L St	
1	PH	Lg. aus A. 0,9 ml KOH 0,9 ml KOH + 0,9 ml Äth. + 0,9 ml Äth. + 0,9 ml Äth. + 2,0 ml C-h. + 2,0 ml C-h + 2,0 ml Vit. A-StandLg.	1
		PH mit Innendeckeln verschließen. 2 Min. schütteln (Schüttelmaschi- ne). 20 Sek. zentrifugieren. Extrakt umgehend weiterverarbei- ten.	
2		Ca. 1,7 ml Extrakt (obere Phase) in Küvette überführen. Fluores- zenzintensität gegen Glasstan- dard messen.	1, 2, 5
3	PH	Extrakt nach der Messung in neue PH zurückgießen. Von oben 15 Min. mit UV-Licht bestrahlen.	1, 3
4		Fluoreszenzintensität des UV-be- strahlten Extrakts messen (siehe Arbeitsschritt 2).	1, 2

Berechnung: s. Blatt 8

Anmerkungen:

- Während der Pipettierungen und der UV-Bestrahlung sind die PH in einem Wasserbad bei einer Temperatur von ca. 15 °C zu halten.
- 2 Meßanordnung:

Geräte:

SPEKOL mit Meßansatz FK1

Zusatzeinrichtung QL (Quecksilberlampe) Primärwellenlänge: 366 nm

Filter UG2 zw. FK1 u. Lichtaustrittsspalt

am SPEKOL

Sekundärfilter: 500 - 3 000 nm (0G4) Zusatzverstärker ZV (Verstärkerstufe 1 000)

Empfängereinrichtung m. Photovervielfacher Pho M (Verstärkerstufe 3)

Eichung:

Einstellung der Fluoreszenzintensität des farblosen Glasstandards (WG9) auf den Wert 55. Dabei ist der Zusatzverstärker ZV auf die Verstärkerstufe 50 zurückzuschalten.

- 3 Zur UV-Bestrahlung der Proben eignet sich eine SOLIMED-Tisch-Quarzlampe (ohne untere Filterplatte). Der Abstand zwischen Lampengehäuse und Proben soll ca. 20 cm betragen.
- Gefrorene Leber in kleine Stücke zerschneiden und im Homo-4 genisator oder Schlagbecher (geschärfte Messer) homogenisieren. Bei Ferkeln ist die gesamte Leber zu homogenisieren.
- Bei Vitamin A-Konzentrationen in der Leber > 90 IE/g, im Kolostrum > 9 IE/ml bzw. in der Milch > 2 IE/ml sind die 5 Extrakte mit Cyclohexan zu verdünnen. Bei der Konzentrationsberechnung ist der Verdünnungsfaktor zu berücksichtigen (Blatt 8).

Berechnung:

VITAMIN A

$$\frac{(F_{P_0} - F_{P_{15}}) + (F_{L_{15}} - F_{L_0})}{(F_{St_0} - F_{St_{15}}) + (F_{L_{15}} - F_{L_0})}$$
 • F = x IE Vit.A/ml (g)

Plasma: F = 2,4 Milch: F = 2,4 Leber: F = 91,8 Kolostrum: F = 9,6

1 IE Vit. A = 0,3 Ag Vit. A-Alkohol

Achtung! Evtl. Verdünnung der Leber- bzw. Milchextrakte beachten! (Anmerkung 5)

Methodenmerkmale:

Methodenbearbeitung:

IaT Eberswalde-Finow; 1975

Wiederauffindung:

97 - 102 %

Präzision:

in der Serie: (n = 20) Plasma: s % \(\) 3,0 Leber: s % \(\) 3,0 Milch: s % \(\) 2,0

von Tag zu Tag: (n = 20)

Plasma: s % \ 5,0 Leber: s % \ 6,0 Milch: s % \ 6,0

Probenanzahl/Tag · AK:

mind. 40 (Einfachbestimmungen)

Verbindlichkeitstermin:

1. 03. 1979

